

## NEOVASCULARIZAREA ÎN DISCURILE DEGENERATIV-DISTROFICE ŞI SEMNIFICAȚIA EI

**Adrian Cociug – doctorand Catedra Morfopatologie USMF „Nicolae Testemițanu”,  
Viorel Nacu – dr. hab. în med., prof. univ., șef Laborator Inginerie Tisulară și Culturi  
Celulare USMF „Nicolae Testemițanu”,**

**Nicolae Caproș – dr. hab. în med., profesor universitar, șef Catedra Ortopedie și Traumatologie,  
Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie “Nicolae Testemițanu”,**

**Olga Macagonova – cercetător științific Laborator Inginerie Tisulară și Culturi Celulare  
USMF „Nicolae Testemițanu”**

*E-mail: [adriancociug77@gmail.com](mailto:adriancociug77@gmail.com), tel: +373079741902*

### Rezumat

Studiile repetate pe discul intervertebral degenerat, demonstrează că există un nivel înalt de neovascularizare în lamelele terminale sau la periferia conținutului hernial. Au fost studiate 87 de discuri intervertebrale obținute postoperator de la bolnavii operați în secția de vertebrologie a IMSP SCTO în ianuarie 2008 – decembrie 2009 și prelevarea materialului cadaveric (segmente vertebrale lombare) de la 28 cadavre cu diferite patologii somatice, vârstă și sex din SCM „Sfânta Treime”. În peretele arterelor vertebrale lombare la colorarea imunohistochimică CD34 și MCT arată că, în diferite etape de ateroscleroză, în plăcile aterosclerotice sunt prezente mastocite în faza lor de degranulare cu eliberarea enzimelor proinflamatorii care sporesc procesul de neovascularizare în peretele vascular. Sunt bine vizualizate histologic schimbările moderate degenerative în discurile intervertebrale lombare, – o proliferare intensă a fibroblastelor, cu tendință de reorganizare a țesutului nucleului pulpos, cât și inelului fibros, preponderent la nivelul lamelelor terminale unde se observă o abundență de capilare nouformate la acest nivel. Acest lucru lămurește tendința la regenerare a țesutului discal.

### Summary. The neovascularization in the disc degenerativ-dystrophic changes and its significance

The repeated studies of the intervertebral disc degeneration pathogenesis shows that there is a high degree of the neovascularization in the terminal lamellas or the periphery of the herniated content. We studied 87 postoperative intervertebral discs obtained from the patients operated in the section of Vertebrology in Republican Clinical Hospital of Orthopedics and Traumatology in January 2008 - December 2009 and after the sampling of the corpse material (lumbar vertebral segments) of 28 cases with various somatic diseases, age and sex in the Municipal Clinical Hospital “Holy Trinity”. The immunohistochemical staining of the lumbar spinal artery wall with CD34 and MCT shows that at different stages of the atherosclerosis development, in the atherosclerotic plaques the mast cells are found in their degranulation phase with the release of the proinflammatory enzymes that enhance the neovascularization process in the vascular wall. Histologically the moderate degenerative changes are better visualized: a high proliferation of fibroblasts, the tissue reorganization trend of the nucleus pulposus as well annulus fibrosus, mainly in the terminal lamellas where there is an abundance of capillaries with the neovascularization at this level. This explains the tendency to the disk tissue regeneration.

### Резюме. Неоваскуляризация при дегенеративно-дистрофических процессах в дисках и ее значимость

Повторные исследования патогенеза дегенерации межпозвоночного диска указывают, что существует высокая степень неоваскуляризации в терминальных пластинках или на периферии содержимого грыжи. Мы изучили 87 послеоперационных межпозвоночных дисков, полученных от оперированных больных в отделении Вертебрологии Республиканской Клинической больницы Ортопедии и Травматологии в январе 2008 года - декабрь 2009 года и после отбора материала после смерти (сегменты поясничных позвонков) 28 случаев от различных соматических заболеваний, разного возраста и пола в Городской клинической больнице «Святой Троицы». Иммуногистохимическое окрашивание стенки артерии поясничного отдела посредством CD34 и MCT показывает, что на разных стадиях развития атеросклероза, в атеросклеротических бляшках тучные клетки находятся в фазе их дегрануляции с выделением провоспалительных ферментов, которые повышают процесс неоваскуляризации в сосудистой стенке. Гистологически лучше визуализируются умеренные дегенеративные изменения: высокая пролиферация фибробластов, тенденция к тканевой реорганизации студенистого ядра, а также фиброзного кольца, в основном в терминальных пластинках, где наблюдается обилие капилляров с неоваскуляризацией на этом уровне. Это объясняет тенденцию к регенерации диска.

## Introducere

Rătsep T. et al. (2013) [1], în studiile lor pe discul intervertebral degenerat, au dovedit că există nivel înalt de neovascularizare în lamelele terminale sau la periferia conținutului hernial. Nivelul de neovascularizare s-a asociat semnificativ cu scorul degenerării histologice a herniei de disc.

Degenerescențele severe ale discurilor lombare cu herniere sunt însoțite de neovascularizare ceea ce este un factor favorabil în regresarea herniei, inducând procesul de regenerare.

Deși au existat numeroase studii experimentale pe disc – cel mai mult conțineau probe din tesuturile cadaverice umane, modele animale – și investigații de cohort a materialului postoperator din secțiile de vertebrologie. Mai multe studii histologice au demonstrat apariția țesutului de granulație cu neovascularizație abundentă, ce servește drept semn distinctiv exprimat prin prolabarea materialului discal [2, 3, 4, 5]. Weidner N. și colab. [5] au declarat că neovascularizarea are o localizare marginală. Alți autori resping această ipoteză socotind-o ca ne semnificativă pentru cercetare [6, 7, 8]. Unele studii histologice, axându-se pe criterii histologice de diferențiere, s-au concentrat pe compoziția conținutului herniei (nucleul pulpos, inelul fibros și lamelele terminale) [9, 10, 11, 12, 13, 14].

Nerlich A.G. et al. [15], în 2007, folosind colorarea imunohistochimică cu CD<sub>31</sub> a discurilor lombare schimbate degenerativ-distrofic, au dovedit prezența neovascularizării. Cel mai abundent este neovascularizată regiunea posterioară a inelului fibros. Tot ei au făcut examinarea discurilor la nou-născuți și au observat că lamelele terminale sunt perforate de capilare îndreptate spre inelul fibros, ocolind nucleul pulpos.

Hasegawa T. et al. [16], în experiențele pe câini, au arătat că în fragmentele de nucleu pulpos degenerat există o reacție inflamatorie care atrage limfocitele, macrofagele, fibroblastele și mastocitele. Alții au examinat probele umane și au constatat prezența macrofagelor în marea majoritate a inflamațiilor acute și cronice ale herniilor [17, 18, 19].

Mastocitele prezente în inflamație în urma degranulării elimină enzime proinflamatorii – interleuchine, factorul de necroză tumorală (TNF), histamine, prostoglandine, fosfolipaza A2, PGE 46 –, care contribuie la stimularea procesului de neovascularizare [20, 21, 22, 23].

În studiul efectuat am folosit colorarea imunohistochimică MCT a peretelui arterelor vertebrale aterosclerotice și am observat că în arterele cu un grad avansat de afectare sunt prezente mastocitele în diverse faze de degranulare, iar perifocal de plăcile aterosclerotice și vasa vasorum – primordii neovascu-

lare ceea ce ne demonstrează că vasul pretinde la o regenerare patologică.

Din cele expuse este clar că la colorarea imunohistochimică cu CD<sub>31</sub> a materialului prelevat postoperator din elementele discului degenerat în el vom găsi formațiuni neovasculare. Eu nu am folosit această colorare, dar în studiul histologic am depistat foarte multe fibroblaste în faza de proliferare ceea ce relevă un indiciu favorabil cu caracter regenerativ și formarea granulațiilor neovasculare.

## Material și metode

Au fost studiate 87 de discuri intervertebrale obținute postoperator de la bolnavii operați în secția de vertebrologie a IMSP SCTO în ianuarie 2008 – decembrie, 2009 și din prelevarea materialului cadaveric (segmente vertebrale lombare) de la 8 cadavre cu diferite patologii somatice, vârstă și sex din SCM „Sfânta Treime”. Studiul histopatologic, folosind colorarea cu hematoxelin-eozină și picrofuxină, a fost efectuat în Laboratorul de anatomie patologică al USMF „Nicolae Testemițanu”. Vârsta pacienților operați (figura 1): până la 20 ani – 7 (8,04±1,07%); 21–30 ani – 14 (16,09±3,94%), 31–40 ani – 23 (26,43±4,73%), 41–50 ani – 24 (27,58±4,79%), 51–60 ani – 14 (16,09±3,94%), după 61 ani – 5 (5,73±3,55%).

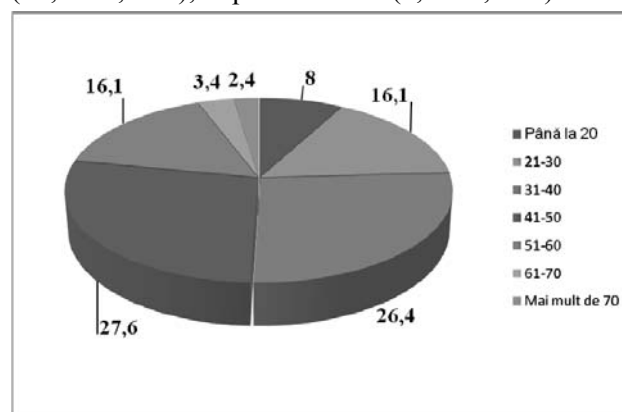


Fig. 1. Structura lotului LII în funcție de grupele de vârstă (ani) (%)

Vârsta medie pentru LII este de 40,1±1,41 de ani.

Studiul histopatologic a urmărit analiza parametrilor de evaluare morfologică a elementelor segmentelor intervertebrale studiate, – de **evaluare macroscopică** (dimensiunea conținutului sacului hernial și aspectul macroscopic) și de **evaluare microscopică** (tipul histopatologic, modificările morfologice la nivelul nucleului pulpos și inelului fibros, modificările morfologice la nivelul lamelelor terminale, aspectul microscopic al marginilor corpurilor vertebrale și starea fibrilară a ligamentelor).

## Rezultate

Histologic, la nivelul discului intervertebral colorat cu hematoxilin-eozină se observă forme severe

de degenerescență a discului intervertebral (figura 2, A) cu cartilaj discal hialinizat (a), calcificări intradiscale sau zone de osificare (b), infiltrat limfocitar (c).

Formele medii de degenerescență a discului intervertebral (figura 2, B) pun în evidență: țesut discal fibrozat (a), cu zone de edem interfibrilar (b); țesut cartilagos discal cu condrocite în condroblaste (c), aspect papilar (d) și zone hemoragice (e), zone de hialinizare (f) și, de proliferarea fibroblastelor (g).

Histologic (figura 2, C), colorat cu hematoxilin-eozină, sunt evidențiate schimbările incipiente de degenerescență a discului intervertebral: aspecte de degenerescență mixoidă (a), central – condroblaste cu condrocite (b).

În discul nemodificat, colorat cu hematoxilin-eozină (figura 2, D), sunt bine vizualizate: condrocitele (a) și condroblastele (b) nemodificate, cu elementele structurale ale țesuturilor fibrilare bine conturate (c), persistența substanței fundamentale condrogene (d).

De aici reiese că: histologic, 10 pacienți ( $11,49 \pm 3,42\%$ ) aveau forme incipiente de degenerescență a discului intervertebral, cu aspecte de degenerescență mixoidă, central condroblaste cu condrocite, 32 pacienți ( $36,78 \pm 4,32\%$ ) – forme medii de degenerescență a discului intervertebral, în care s-au depistat: țesut discal fibrozat, cu zone de edem interfibrilar; țesut cartilagos discal cu condrocite în condroblaste, aspect papilar, zone hemoragice și zone de hialinizare. 45 de pacienți ( $51,72 \pm 5,36\%$ ), cu vârsta după 60 de ani, aveau forme avansate de degenerescență a discului intervertebral, în care s-au determinat: carti-

laj discal hialinizat, calcificări intradiscale sau zone de osificare, infiltrat limfocitar.

Este bine vizualizat în schimbările moderate a modificărilor degenerative, – o proliferare intensă a fibroblastelor, cu tendință la reorganizarea țesutului nucleului pulpos, cât și inelului fibros, preponderent la nivelul lamelelor terminale unde este o abundență de capilare nou formate la acest nivel. Acest lucru lămurește tendința la regenerarea țesutului discal.

Un studiu efectuat în Centru Cercetării în Angiogeneză din Timișoara, România, pe un eșantion de 20 cazuri a arterelor vertebrale lombare L1 până la L5 (100 artere vertebrale lombare) și discul intervertebral L1–L5 la acest nivel, în peretele arterelor vertebrale lombare la colorarea imunohistochimică CD34 și MCT arată că, în diferite etape de ateroscleroză, în plăcile aterosclerotice sunt mastocite în faza lor de degranulare cu eliberarea enzimelor proinflamatorii, ce este determinat [2, 3, 4, 5], că ele sporesc procesul de neovascularizare, în cazul dat în peretele vascular.

Examenul imunohistochimic cu anticorpi MCT (mastocyte cell tryptase) efectuat la 5 artere vertebrale ( $5 \pm 1,12\%$ ), identifică prezența celulelor mastocitare cu fazele lor de activitate. Eșantionul de investigație evidențiază bine modificările avansate aterosclerotice (figura 3), cu prezența mastocitelor în faza de degranulare (a), preponderent în peretele arterelor vertebrale L5 și L4, la nivelul plăcilor cu proliferarea fibroblastelor (b), înconjurată de o intumescență mucoidă (c).

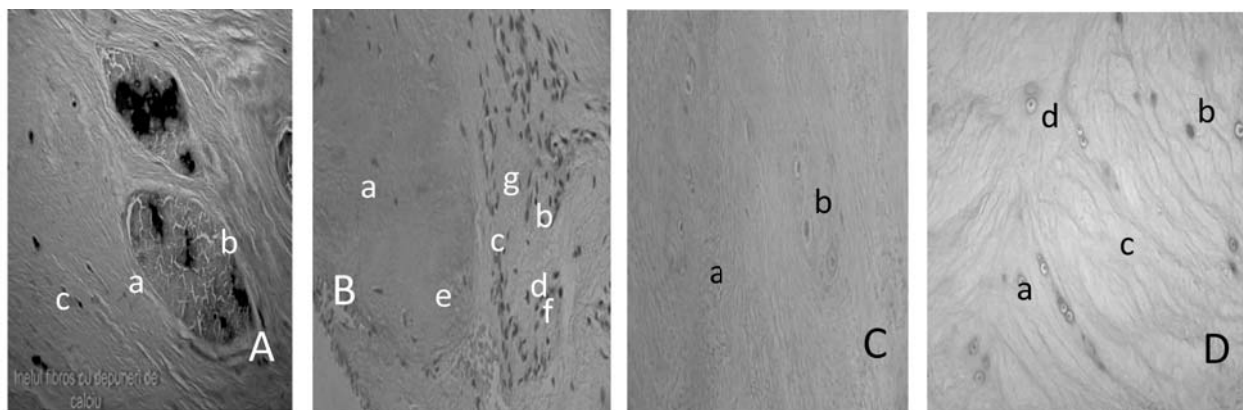


Fig. 2. A. Inelul fibros din discul intervertebral 5: a) cartilaj discal hialinizat, b) calcificări intradiscale sau zone de osificare, c) infiltrat limfocitar; H–E x 140. (Pacientul K., 82 ani).

B. Nucleul pulpos din discurile intervertebrale lombare 4, 5: a) țesut discal fibrozat, b) zone de edem interfibrilar; c) țesut cartilagos discal cu condrocite în condroblaste, d) aspect papilar, e) zone hemoragice, f) zone de hialinizare, g) fibroblaste proliferate; H–E x 140. (Pacientul A., 62 ani).

C. a) Degenerescență mixoidă, b) în centru – condroblaste cu condrocite; H–E x 140, (Pacientul D., 51 ani).

D. Nucleul pulpos din discul intervertebral lombar 2: a) condrocite și b) condroblaste conturate, c) structură fibrilară organizată, cu persistența substanței fundamentale condrogene (d); H–E x 140. (Pacientul C., 32 ani)

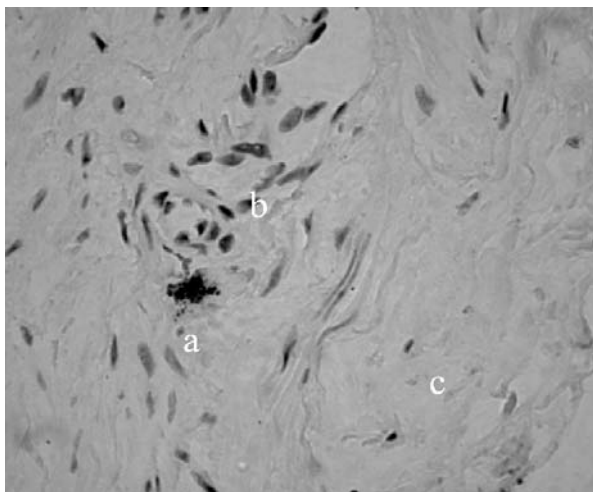


Fig. 3. Artera vertebrală lombară 4: a) mastocit degranulat, b) proliferarea fibroblastelor; c) intumescență mucoidă, IHC MCT x 90; (Pacientul G., 64 ani)

În caz similar și în discul intervertebral sunt prezente multiple elemente celulare inflamatorii cu tendință la sclerozarea țesutului afectat cu substituirea țesutului conjunctiv, iar la periferia discului intervertebral lombar, în lamelele terminale, proliferarea intensă a fibroblastelor în afară de sinteza și secreția proteinelor fibroase ale matricei extracelulare, produce colagenaza care scindează fibrele collagenice, reglând anabolismul și catabolismul țesutului conjunctiv dar și neovascularizarea tisulară patologică, efectuându-se prelungirea viabilității discului intervertebral.

#### Concluzii:

1. Modificările histopatologice evidențiate în formele incipiente de degenerescență a discului intervertebral, identificate la 10 ( $11,49 \pm 2.42\%$ ) pacienți operați, au fost următoarele: degenerescență mixoidă la nivelul cartilajului discal, cu condroblaste și condrocite în centrul imaginii; – hialinizare și zone de edem interfibrilar în țesutul discal fibrozat.

2. Modificări histopatologice în faza a doua, forme medii de degenerescență a discului intervertebral, au fost depistate la 32 ( $36,78 \pm 3.67\%$ ) pacienți: țesut cartilagos discal cu condrocite în condroblaste de aspect papilar și zone hemoragice condroblaste cu condrocite asociate în zona de degenerescență mixoidă.

3. Modificări histopatologice de tip trei, în formele avansate de degenerescență a discului intervertebral, au fost descoperite la 45 pacienți ( $51,72 \pm 5.36\%$ ) degenerescență mixoidă, cartilaj discal hialinizat cu zone de calcificare intradiscală, prezența celulelor tinere (fibroblaste și condroblaste), țesut cartilagos cu zone de fibroză și infiltrat inflamator cronic.

4. Un element important evidențiat de noi a fost

identificarea celulelor tinere (fibroblaste) în leziunile medii degenerative, oferindu-ne astfel posibilitatea reparării leziunilor discale.

5. Imunohistochimia cu anicorpi MCT (mastocyte cell tryptase) identifică în arterele cu un grad avansat de afectare sunt prezente mastocitele în diverse faze de degranulare, iar perifocal de plăcile aterosclerotice și vasa vasorum-primordii neovasculare ceea ce ne demonstrează că vasul pretinde la o regenerare.

#### Bibliografie

1. Rätsep T., Minajeva A., Asser T. *Relationship between neovascularization and degenerative changes in herniated lumbar intervertebral discs*. Source Department of Neurology and Neurosurgery, University of Tartu. J. Eur Spine. 2013; 510–14.80.
2. Carreon L.Y., Ito T., Yamada M., Uchiyama S., Takahashi H.E. *Neovascularization induced by anulus and its inhibition by cartilage endplate. Its role in disc absorption*. Spine 1997, 22:1429–1434.
3. Ito T., Yamada M., Ikuta F., Fukuda T., Hoshi S.I., Kawaji Y., et al. *Histologic evidence of absorption of sequestration-type herniated disc*. Spine 1996, 21:230–234.262.
4. Repanti M., Korovessis P.G., Stamatakis M.V., Spastris P., Kosti P. *Evolution of disc degeneration in lumbar spine: a comparative histological study between herniated and postmortem retrieved disc specimens*. J Spinal Disord. 1998, 11:41-45.
5. Videman T., Battie M.C. *The influence of occupation on lumbar degeneration*. Spine. 1999; 24:1164–1168.
6. Yasuma T., Arai K., Yamauchi Y. *The histology of lumbar intervertebral disc herniation. The significance of small blood vessels in the extruded tissue*. Spine. 1993, 18:1761–1765.
7. Choy D.S. *Familial incidence of intervertebral disc herniation: an hypothesis suggesting that laminectomy and discectomy may be counterproductive*. J Clin Laser Med Surg. 2000. N1. P.29-32.
8. Moskowitz R.W., Ziv I., Denko C.W. *Degeneration on lumbar intervertebral disc tissue*. Spine. 1996, 21:2149-2155.
9. Eckert C., Decker A. *Pathological studies of intervertebral discs*. J Bone Joint Surg Am. 1947, 29:447–454.
10. Willburger R.E., Ehiosun U.K., Kuhnen C., Kramer J., Schmid G. *Clinical symptoms in lumbar disc herniations and their correlation to the histological composition of the extruded disc material*. Spine. 2004, 29:1655–1661.
11. Yasuma T., Makino E., Saito S., Inui M. *Histological development of intervertebral disc herniation*. J Bone Joint Surg Am. 1986, 68:1066–1072.
12. Yasuma T., Arai K., Yamauchi Y. *The histology of lumbar intervertebral disc herniation. The significance of small blood vessels in the extruded tissue*. Spine. 1993, 18:1761–1765.
13. Zortam A., Vettori M.A., Trevisan C.P., Bellini S., Vazza G., Armani M., Simon A., Mostacciolo M.L. *Ge-*

- netic mapping of a susceptibility locus for disc herniation, 6q23.3-q24.1 spastic paraplegia on.* J Med Genet. 2002; 39: p 387-390.
14. Harada Y., Nakahara S. *A pathologic study of lumbar disc herniation in the elderly.* Spine. 1989, 14:1020-1024.
  15. Nerlich A.G., Schaaf R., Walchli B., Boos N. *Temporo-spatial distribution of blood vessels in human lumbar intervertebral discs.* J. Eur. Spine. 2007;16, p 547-555.
  16. Hasegawa T., An H.S., Inufusa A., et al. *The effect of age on inflammatory responses and nerve root injuries after lumbar disc herniation: an experimental study in a canine model.* Spine. 2000; 25: 937-940.
  17. Gronblad M., Virri J., Tolonen J., et al. *A controlled immunohistochemical study of inflammatory cells in disc herniation tissue.* Spine. 1994; 19:2744-2751.
  18. Habtemariam A., Gronblad M., Virri J., et al. *A comparative immunohistochemical study of inflammatory cells in acute-stage and chronic-stage disc herniations.* Spine. 1998; 23:2159-2166.
  19. Ikeda T., Nakamura T., Kikuchi T., et al. *Pathomechanism of spontaneous regression of the herniated lumbar disc: histologic and immunohistochemical study.* J Spinal Disord. 1996;9:136-140.
  20. Doita M., Kanatani T., Harada T., et al. *Immunohistologic study of the ruptured intervertebral disc of the lumbar spine.* Spine. 1996;21:235-241.
  21. Gronblad M., Virri J., Ronkko S., et al. *A controlled biochemical and immunohistochemical study of human synovial-type (Group II) phospholipase A2 and inflammatory cells in macroscopically normal, degenerated, and herniated human lumbar disc tissues.* Spine. 1996; 21:2531-2538.
  22. Saal J.S. *The role of inflammation in lumbar pain.* Spine. 1995;20:1821-1827. Saal JS, Franson RC, Dobrow R, et al: *High levels of inflammatory phospholipase A2 activity in lumbar disc herniations.* Spine. 1990;15:674-678.
  23. Boutin P., Hogshead H. *Surgical pathology of the intervertebral disc. Is routine examination necessary?* Spine 1992, 17:1236-1238.